

SerSerSerSerLysAlaProProProSerLeuProSerProSerArgLeuProGlyProSer



FIG. 2

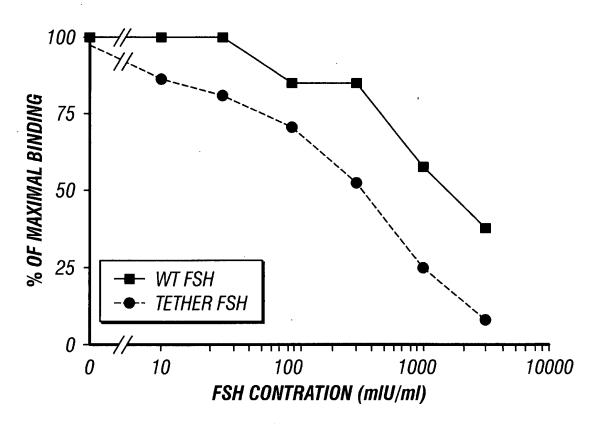


FIG. 3

agc Ċ ڻ ggatcc(BamHI) S G G O Д Д gggccc (ApaI) G Д α; S ഗ Д ρ. α. GACTCCTCTTCCTCAAAGGCCC Ø S S

GCTCCTGATGTGCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCCGGGTGCCCCAATACTTCAGTGGGCTGCTGCTTCTTCTTTAGAGCATAT CGAGGACTACACGTCCTAACGGGTCTTACGTGCGATGTCCTTTTGGGTAAGAGGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACGTACCCGACGACGAAGAGATCTCGTATA-Ø α; S ഥ ی ی G  $\mathbf{z}$ ပ Ŏ 二 പ Ø ம Д Ŏ ഗ لتدا Д Z ഥ Õ ᆔ ⊱ ں ᇤ പ ပ  $\Box$ Õ gct(Eco47III) Ø

CCCACTCCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAGAACGTCACCTCAGAGTCCACTTGCTGTAGTAAAAATCATAAACAGGGTCACAGTAATGGGGGGTTTTC-GGGTGAGGTGATTCCAGGTTCTTCTGCTACAACCAGGTTTTCTTGCAGTGGAGTCTCAGGTGAACGACACATAGATTTAGTATTGTCCCAGTGTCATTACCCCCAAAG-Ġ G Σ > ⊟  $\triangleright$ 24 Z  $\succ$ တ  $\simeq$ Ø > ی ပ E--I S ഥ လ ₽ > z **×** Ö  $\triangleright$ H  $\mathbf{\Sigma}$ ₽ × 2 လ ഷ Ы Д ⊢ Д

ITTCACCTCTTGGTGTGCCGCACGGTGACGTCATGAACAATAATAGTGTTTAGAATTCCATGGCCTAGGTAGAGTTCGATTAGGCCT-5' AAAGTGGAGAACCACACGGCGTGCCACTGCAGTACTTGTTATTATCACAAATCTTAAGGTACC-3' ഗ × Н  $\succ$ >-ی ⋿⊣ လ ပ = ပ Ø E 二 z 또ᄀ  $\triangleright$  $\simeq$ 

FIG. 5B

(KpnI)ggtaccggatcc(BglII)

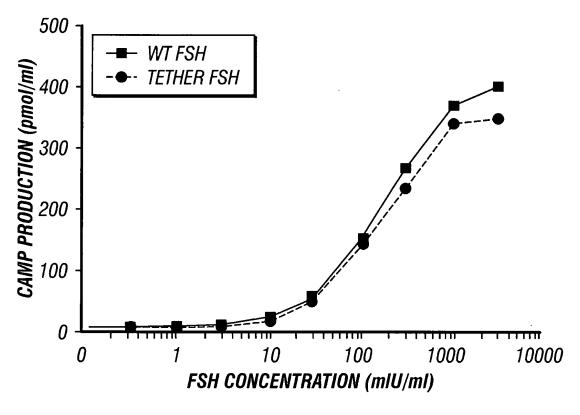


FIG. 4

4/28

(underlined) Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog #1 and Primers

3 G Ġ  $\mathbf{z}$ လ Н ᆸ I I П 口 ᆸ ტ Õ ᇤ  $\mathbf{z}$ ഥ Σ

ഥ

Ø

3'-GGTICCTACCICTACAAGGICCCCGACGACGACGACGACGACGACTCGTACCCGCCCTGTACCCGTAGGITCCICGGCGAA-5'-<u>A</u>IGAAATCGACGGAATCAGACTCGAGCCAAGGATGGAGATGTTCCAGGGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAGCATGGGCGGGACATGGGCATCCAAGGAGCCGTT

ctcgag (XhoI)

CGGCCACGGTGCCGCCCCATCAATGCCACCCTGGCTGTGGAGAAGGAGGGCTTGCCCCGTGTGCATCACCGTCTCAACACCACCATCTGTGCCGGCTACTGCCCATGACC GCCGCTGCCACGCCGGGGTAGTTACGGTGGGACCGACACCTCTTCCTCCGACGGGCCACATAGTGGCAGTTGTGGTGGTAGACACGGCCGATGACGGGGTGGATCTGG-× Д ပ ტ ¥ L > ⊢ I O A പ ပ G ᄄ E K > Ø ᆸ ₽ I N A പ α;

പ z > G α ىم ပ G Д **--**--1 ∝ Н ഗ ᇤ ᄄ æ  $\triangleright$ R D N O A A O cctnagg (MstII) Д П Ø œ ы > ෆ Ŏ 口 R V

Д ی ⊢ Ы Д = × പ G ഗ ပ ⊱ ⊱ တ ~ 24 ပ ы ď ပ Õ ပ လ 口 Ø > Ø >

FIG. 5A

Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog #2 and Primers

(underlined)

Ø ⊱ Ç G  $\mathbf{z}$ လ П П ᆸ 口 H 二 щ G Õ ഥ  $\mathbf{z}$ ဌ Σ

×

3'-GGTTCCTACCTCTACAAGGICCCCGACGACGACGACGACGACGACTCGTACCCGCCCTGTACCCGTAGGTTCCTCGGCGAA-

ctcqaq(XhoI

CGCCCACGTGCCGCCCCATCAATGCCACCCTGGGTGGAGGAGGGGGCTGCCCCGTGTGCATCACCGTCAACACCACCATCTGTGCGGGTACTGCCCACCATCATGACCAC GCCGGTGCCACGGCGGGTAGTTACGGTGGGACCGACACCTCTTCCTCCGACGGGGCACACGTAGTGGCCAGTTGTGGTGGTAGACACGGCCGATGACGGGGTGGATCTGG بم  $\succ$ G Ø ⋿ Z > ⊢ > Д ഗ ഥ **×** ᇤ > Ø ப ⊱ Ø z വ

6/28 പ z > G **6**4 പ ပ G Д П 24 **|----|** တ ဌ ᄄ  $\alpha$ > œ >-1 z C A cctnagg (MstII) P Q V П A ~ ᆸ > G Ŏ II R

GTCTCCTACGCCGTGGCTCTCAGCTGTCAATGTGCACTCTGCCGCCGCAGCACCACTGCGGGGGTCCCAAGGACCACCCCTTGACCTGTGATGACCCGCGGGGATCC ഗ 24 പ Ω Ω ပ E⊶ ᆸ م == 노 Д G G ں ⋿ ӹ လ 24 ~ ပ A L ပ ŏ ی ഗ щ V Λ Ø  $\succ$ >

FIG. 64

(SstII)ccgcggggatcc(BamHI)

GGTAGCGGATCTGGTAGCGCTCCTGATGTGCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCCGGGTGCCCAATACTTCAGTGCATGGGCTGC CCATCGCCTAGACCATCGCGAGGACTACACGTCCTAACGGGTCTTACGTGCGATGTCCTTTTGGGTAAGAAGAGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACGTACCCGACG ۍ  $\mathbf{\Sigma}$ ပ Ŏ H വ Ø G ച O<sub>i</sub> വ بعتا z ဌ Ö Ы ⊢ ی ဌ Д ں  $\Box$ Ø agcgct(Eco47III)  $\Box$ Д ഗ G G G

TGCTTCTCTAGAGCATATCCCACTCCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAGAACGTCACCTCAGAGTCCACTTGCTGTGTAGCTAAATCATAACAGGGTCacgaagagatctcgtatagggtgaggtgattccaggttcttctgctacaaccaggttttcttgcagtggagtctcaggtgaacgacacatcgatttagtattgtcccag-24 z  $\succ$ Ø > ပ ပ ⋿ က ഥ ഗ ਦ⊸ > z × ŏ > Σ 터 M × ഗ  $\simeq$ ப Д ⊟ ⋈ Ø ~ ഗ

TGTCATTACCCCCCAAAGTTTCACCTCTTGGTGTGCCGCACGGTGACGTCATGAACAATAATAGTGTTTAGAATTCCATGG-5' ACAGTAATGGGGGGTTTCAAAGTGGAGAACCACAGGGGTGCCACTGCAGTACTTGTTATTATCACAAATCTTAAGGTACC-3' လ  $\bowtie$ 二 >-1 >-ပ E⊶ လ ပ × ပ Ø E--1 = z ᇤ Λ × [:z., <u>ڻ</u> G  $\mathbf{\Sigma}$ Δ

ggtacc(KpnI)

FIG. 6B

Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog #3 and Primers

(underlined)

Ø 3 Ø G Ġ Σ လ ы Ы ы П П П П ക Õ ы  $\mathbf{\Sigma}$ [-]  $\mathbf{z}$ 

ഥ

 $\alpha$ 

5'-ATGAAATCGACGGAATCAGACTCGAGCCAAGGAATGGAGGATGCTCCAGGGCTGCTGTTGCTGCTGCTGTGAGCATGGGCGGGGCATGGGCATCCAGGGAGCCGCTT

ctcgag (XhoI)

∑ പ ပ G Ą ₽ Z > E⊶ Ь М ပ ى ഥ X 드기 A V ப A I z Д  $\equiv$ 3

CGGCCATGGTGCCACCCCATCAATGCCATCCTGGCTGTGGAGAAGGAGGGCTGCCCCGTGTGCATCACCGTCAACACACCATCTGTGCCGGCTACTGCCCACCATGATG-

GCCGGTACCACGGTGGGGATGTTACGGTAGGACCGACACCTCTTCCTCCCGACGGGCACACGTAGTGGCAGTTGTGGTGGTAGACACGGCCGATGACGGGGTGGTACTAC

8/28 CGCGTGCTGCAGGCGGTCCTGCCGCCCTGCCTCAGGTGGTGTGTGCCACCTACCGTGATGTGCGCTTCGAGTCCATCCGGCTCCCTGGCTGCCGCGTGGCGTGGACCCCGTG GCGCACGACGTCCGCCAGGACGGCGGGGACTCCACCACCACGTGGATGGCACTACACGCGAAGCTCAGGTAGGCCGAGGGACCGACGGGCGCCACCGCGCACCTGGGGCAC ച > G 24 പ ပ ഗ Д R Н လ 드그 뚀 ഷ >  $\simeq$ QVVCTY Д ப വ പ ΙΛ Ø Ö **-**--1 R V

cctnagg (MstII)

G പ н ပ ₽ 山 مم ≖  $\Box$ × പ ഗ G ی  $\Box$ ഗ ⊱ လ ~  $\approx$ ပ Ы G ى ~ ပ ഗ П ¥ > ഥ

GTCTCCTTCCCTGTGGCTCTCAGCTGTCGCTGTGGACCCTGCCGCCGCAGCACCTCTGACTGTGGGGGTCCCAAAGACCCCCTTGACCTGTGACCACCACCCCAAGGATCC

CAGAGGAAGGGACACCGAGAGTCGACACGGCACCTGGGACGGCGGCGTCGTGGAGACTGACACCCCCAGGGTTTCTGGTGGGGAACTGGACACTGGTGGGGGGTTCCTAGG (BamHI) ggatcc

ggtacc (KpnI)

GGTAGCGGATCTGGTAGCGCTCCTGATGTGCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCCGGGTGCCCCAATACTTCAGTGCATGGGCTGC CCATCGCCTAGACCATCGCGAGGACTACACGTCCTAACGGGTCTTACGTGCGATGTCCTTTTGGGTAAGAAGAGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACGTACCCGACG ں ۍ × ں വ Ø Ġ Ö လ် بعتا Д z 뜨 O Н E--1 ی ഥ ص ی  $\Box$ Ø agcgct (Eco47III)  $\Box$ Д S G ഗ ഗ

TGCTTCTCTAGAGCATATCCCACTCCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAGAACGTCACCTCAGAGTCCACTTGCTGTGTAGCTAAATCATAACAGGGTCacgaagabtetcectatagggtgaggtgattccaggttcttctgctacaaccaggttttcttctggagtctcaggtgaacgacacatcgatttagtattgtcccagœ z  $\succ$ လ × Ø ں ပ ӹ ഗ ഥ E⊸ > z × Ö >  $\mathbf{z}$ ⋳  $\simeq$ × ഗ ഷ П Ы ⊱ Д > Ø 公 ഗ

ACAGTAATGGGGGGTTTCAAAGTGGAGAACCACACGGCGTGCCACTGCAGTACTTGTTATTATCAAAATCTTAAGGTACC-3' TGTCATTACCCCCCCAAAGTTTCACCTCTTGGTGTGCCGCACGGTGACGTCATGAACAATAATAGTGTTTAGAATTCCATGG-5' လ × H Ϋ́Υ ပ E--1 S ပ C H Ø ₽ 二 z ᇤ > × 또 ტ G Σ ΛΙ

FIG. 7B

Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog 4 and Primers

(underlined)

z ں Н ø × 3 ں ى ᇤ ᆸ ᄄ Ľ۳ı [±4 Ö 山 ₽  $\mathbf{\Sigma}$ 

ш

ഗ

<u> TITCCITITCTGTTGCTGGAAAGCAATCTGCTGCAATAGCTGTGAGCTGACCAAC</u> 5'-atgaaaatcgacggaatcagactcgagccaaggatgaagacactccagt 3'-GGTTCCTACTTCTGTGAGGTCAAAAAAAGAAGGAAAAGACAACGACCTTTCGTTAGACGACGTTATCGACACTCGACTGGTTG-

ctcgag (XhoI)

Ø പ ⊣ α, E-- $\succ$ ပ ტ Ø 3 E⊶ Z ഗ 또 ~ ပ ഥ [±] ᇤ

10/28 ⊱ Ø > പ ⊁ ₽  $\succ$ ᆸ ഗ  $\Box$ ¥ H == ď ပ G പ Λ 24 > ₽ ഥ ⊶ Λ П ဌ × بعتا ⊟ ပ ⋿ × Ø Н × വ

GGGTTTTAGGTCTTTTGTACATGGAAGTTCCTTGACCATATACTTTGTCACTCTCACGGGCCGACACGAGTGGTACGTTAAGGAACATATGTAATGGGTCACCGGTGGGTC

tggcca(Ball)

G

ഗ

G

G S

ഗ

G

ഥ

X

Σ

드

G

[<del>I</del>

ഗ

ပ

 $\succ$ 

လ

പ

ტ

ப

G

24

>

E--

ပ

⊱⊣

ഗ

 $\Box$ 

တ

ပ

×

G

ပ

二

ACAGTGACACCGTTCACACTGTCGCTGTCGTGACTAACATGACACGCTCCGGACCCCGGGTCGATGACGAGAAACCACTTTACTTTCTTCCTAGGCCATCGCCTAGACCA gggccc (ApaI)

TGTCACTGTGGCAAGTGTGACAGCGACAGCACTGATTGTACTGTGCGAGGCCTGGGGCCCAGCTACTGCTCCTTTGGTGAAATGAAAGAAGGATCCGGTAGCGATCTGGT

ggatcc(BamHI)

FIG. 8A

AGCGCTCCTGATGTGCCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCCGGGTGCCCAATACTTCAGTGCATGGGCTGCTGCTTCTCTAGAGCA- $\overline{ ext{TCG}}$ CGAGGACTACACGTCCTAACGGGTCTTACGTGCCTTTTTGGGTAAGAGGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACGTACCCGGACGAAGAGAGATCTCGT 24 ഗ بحا ပ G  $\mathbf{\Sigma}$ ی Ö ച Ø G വ လ Д z ᇤ 0 ⊣ ⊏ ں ᇤ Д ں Ø agcgct(Eco47III) >

TATCCCACTCCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAGAACGTCACCTCAGAGTCCACTTGCTGTGTAGCTAAATCATATAACAGGGTCACAGTAATGGGGGGT ATAGGGTGAGGTGATTCCAGGTTCTTCTGCTACAACCAGGTTTTCTTGCAGTGTGGAGTCTCAGGTGAACGACACATCGATTTAGTATATTGTCCCAGTGTCATTACCCCCCA G × > E--1 > ~ z လ × V > ပ E--1 လ 드기 ഗ > z × Ŏ >  $\mathbf{z}$ ₽ × × ഗ ≃ 口 E

AAGTITCACCTCTTGGTGTGCCGCACGGTGACGTCATGAACAATAATAGTGTTTAGAATTCCATGG-5' TTCAAAGTGGAGAACCACACGGCGTGCCACTGCAGTACTTGTTATTATCACAAATCTTAAGGTACC-3' လ × н C X X ⊢ လ ပ = ပ A E--1 = z 더 > × ᇤ

ggtacc(KpnI)

FIG. 8B

### (underlined) Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog #5 and Primers

### 3' -GGTTCCTACCTCTACAAGGTCCCCGACGACGACGACGACGACGACGACGTACCCGCCCTGTACCCGTAGGTTCCTCGGCGAA-5 ' - <u>ATGAAATCGACGGAATCAGACTGGAGATGGAGATGTTCCAGGGGCTGCTGTTGCTGCTGCTGCTGCAGGGCGGGACATGGGCCATGGGCCATGGGCATTCGAAGGAGCCGTT</u> СZ Ø ⊱ ڻ G $\mathbf{\Sigma}$ r N П ப П П ᆸ 口 G Õ Cz. $\mathbf{\Sigma}$ ᄄ Σ ctcgag (XhoI)

GCCGCIGCCACGCCGGGGTAGTTACGGTGGGACCCGACACCTCCTCCCGACGGGGCACACGTAGTGGCAGTTGTGGTGGTAGACACGGCCGATGACGGGGTGGATCTGG-CGGCCACGGTGCCGCCCCATCAATGCCACCCTGGCTGTGGAAAGGAGGGCTGCCCCGTGTGCATCACCGTCAACACCACCATCTGTGCCGGCTACTGCCCCACCATGACC  $\mathbf{z}$ ₽ Д ပ . G Ø E--1 z ΙΛ щ P V C ပ ဟ ᄄ × ഥ > Ø Н ₽ N A പ ~ α, പ

GCGCACGACGICCCCCAGGACGGCCGGGACGICCACCACGTIGATGGCGCTACACGTACACGCAAGCTCAGGTAGGCCGAGGGACCGACGGGCGCGCCGCCGCACTTGGGGCAC പ z  $\triangleright$ 5 24 Д ပ L P G ~ S ഥ 또 24 D V R A L P Q V V C N Y R cctnagg (MstII) V L ტ ŏ R V

12/28

GTCTCCTACGCCGTGGCTCTCAGCTGTCAATGTGCACTCTGCGACAGCGACAGCACTGATTGTACTGTGCGAGGCCTGGGGCCCAGCTACTGCTCCTTTGGTGAAATGAAA-CAGAGGATGCGGCACCGACAGTCGACAGTTACACGTGAGACGCTGTCGTCGTGACTAACATGACACGCTCCGGACCCCGGGTCGATGACGAGGAAACCACTTTACTTT Σ بخا လ ပ >-တ Д ဟ 山 9 ഷ > ⊢ ပ ⊱ ഗ  $\Box$ ഗ ပ A L ပ Ø ပ လ ᆸ Ø >  $\triangleright$ 

gggccc (ApaI)

CTICCIAGGCCAICGCCIAGACCAICGCGAGGACIACACGICCIAACGGGICIIIACGIGCGAIGICCIIIIIGGGIAAGAAGAGGGICGGCCCACGGGGIIAIGAAGICACG GAAGGATCCGGTAGCGGATCTGGTAGCGCTCCTGATGTGCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCCGGGTGCCCAATACTTCAGTGC ပ Ŏ G Д Ö Д z ᇤ O ഥ ں Ŏ A agcgct(Eco47III) တ Ċ G ggatcc(BamHI) S က

ATGGGCTGCTTCTCTAGAGCATATCCCACTCCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAAGAACGTCACCTCAGAGTCCACTTGCTGTGTAGTAATCATAT-TACCCGACGAGGAGAGATCTCGTATAGGGTGAGGTGATTCCAGGTTCTTCTGCTACAACCAGGTTTTCTTGCAGTGGAGTCTCAGGTGAACGACACACATTTAGTATA-ഗ Ø > ပ ⋿ တ 됴 တ ⊱ > Z 24 Ŏ Σ × × ഗ 2 ᅟᅳ പ ⊢  $\succ$ Ø ~ တ ഥ ပ ტ Σ

TTGTCCCAGTGTCATTACCCCCCCAAAGTTTCACCTCTTGGTGTGCCGCACGGTGACGTGAACAATAATAGTTTAGAATTCCATGG-5' aacagggtcacagtaatggggggtttcaaagtggagaaccacacggggtgccactgcagtacttgttattatcacaaatcttaaggtacc-3 လ  $\simeq$ н Y Y ပ €→ ഗ ပ н ပ Ø ⊨ H Z ഥ > × ᄄ G ტ Σ > > 24 z

ggtacc(KpnI)

FIG. 9B

Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog #6 and Primers

(underlined)

Ø Z G G  $\mathbf{\Sigma}$ လ щ П П **-**--1 ᆸ Ы ப G Õ بحا  $\mathbf{z}$ ᇤ  $\mathbf{\Sigma}$ 

2

3' -GGTTCCTACCTCTACAAGGTCCCCGACGACGACGACGACGACGACGACGTCGTACCCGCCCTGTACCCGTAGGTTCCTCGGCGAA-

ctcgag (XhoI)

CGGCCACGGTGCCGCCCCATCAATGCCACCCTGGCTGTGGAGGAGGGCTTGCCCCGTGTGCATCACCGTCAACACACCATCTGTGCCGGCTACTGCCCACCATGACC-GCCGGTGCCACGGCGGGTACTTACGGTGGGACCGACACCTCTTCCTCCCGACGGGCACACGTAGTGGCAGTTGTGGTGGTAGACACGGCCGATGACGGGGTGGATCTGG- $\mathbf{z}$ а ... G ď 드 z > E--1  $\triangleright$ പ 5 드 × ᇤ V 口 ⊢ V z പ 24 ~

പ z > ტ ~ М ပ ය ۵ ы ~ Н လ ഥ لحا α; ^  $\Box$ 24  $\succ$ z O A P Q V Ы Ø ĸ Λ ტ cctnagg(MstII) O<sub>1</sub> 戸 R V

*14/28* 

G ഗ ں လ പ Ċ ᆸ ტ  $\simeq$ > ⊱ ပ  $\Box$ ⊢ ₽ လ 24  $\alpha$ ပ Ы C Ø ပ လ П A > YA ഗ >

gggccc (ApaI)

FIG. 10A

ggtacc (KpnI)

GAAGGATCCGGTAGCGGATCTGGTAGCGCTCCTGATGTGCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCCGGGTGCCCAATACTTCAGTGC  $ext{CTICCIAGGCCATCG}$ CCTAGACCATCGCGAGGACTACACGTCCTAACGGGTCTTACGTGCGATGTCCTTTTGGGTAAGAAGAGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACG-ں ď G Õ ഗ 또 z 띠 Н ပ ഥ ہم ပ O agcgct (Eco47III)  $\Box$ Д က G G ggatcc(BamHI) ഗ G

ATGGGCTGCTGCTTCTCTAGAGCATATCCCACTCCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAGAACGTCACCTCAGAGTCCACTTGCTGTGTAGAATCATAT TACCCGACGACGAAGAGATCTCGTATAGGGTGAGGTGATTCCAGGTTCTTCTGCTACAACCAGGTTTTCTTGCAGTGGAGTCTCAGGTGAACGACACACATTTAGTATA-လ × Ø ပ ပ ഗ ഥ ഗ E--+  $\triangleright$ z × O' >  $\mathbf{z}$ ₽ ×  $\simeq$ ഗ ഷ щ പ ₽ Д >-1 Ø ·~ ഗ لحا ပ G Σ

aacagggtcacagtaatggggggtttcaaagtggagaaccacacggggtgccactgcagtacttgttattatcacaaatcttaaggtacc-3' လ × н C Y Y ⊢ လ O H O Ø ₽ ≖ Z ᇤ  $\triangleright$ × 또 ტ G Σ > > ĸ z

FIG. 10B

Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog#7 and Primers

(underlined)

3 ഗ G Σ ഗ Ы ᆸ П П Ы П ഗ Õ ᄄ Σ ഥ  $\mathbf{z}$ 

 $\mathbf{k}$ 

Ø

3' -GGTTCCTACCTCTACAAGGTCCCCGACGACGACGACGACGACGACGACGTCGTACCCGCCCTGTACCCGTAGGTTCCTCGGCGAA-

ctcgag(XhoI)

Σ പ C G V Ø ပ ⊢ ⊱ z > ₽ I O A വ ပ <u>ڻ</u> ഥ × Œ  $\triangleright$ Ø Н E--+ Æ z പ Ω4 24

CGGCCACGGTGCCGCCCCATCAATGCCACCCTGGGTGGAGGAGGGGGCTGCCCCGTGTGACACCGTCAACACCACCATCTGTGCGGGTACTGCCCACCATGACCA

GCCGGTGCCACGGCGGGTAGTTACGGTGGGACCCACCTCTTCCTCCCGACGGGCCACACGTAGTGGCAGTTGTGGTGGTAGACACGGCCGATGACGGGGTGGATCTGG-

16/28 Д z > G œ Д ပ ഗ Д ж. П N S ᄄ 또 24  $\triangleright$ R D >-1 z ာ ^ P Q V ᆸ Ø **∝** Н > 9 о́ R V

GCGCACGACGTCCCCCAGGACGGCCGGGACGGAGTCCACCACACGTTGATGGCGCTACACGCGAAGCTCAGGTAGGCCGAGGGACCGACGGGCGCGCCGCCGCACTTGGGGCAC

cctnagg(MstII)

G 또 လ ပ က م G **-**--1 Ġ α; > ⊢ ပ ⊱ ⊱ ഗ α; α; ပ ы CA Ŏ ပ ഗ **--**--Ø > Ø >-

>

CAGAGGATGCGGCACCGACAGTCGACAGTT<u>a</u>CACGTGAGACGGCGTCGTGACTGACTGACTGACACGCTCCGGACCGGGTCGATGACGAGGAAACCACTTCCTAGG-

ggatcc(BamHI) gggccc (ApaI)

FIG. 11A

ggtacc(KpnI)

 $\overline{ ext{CCATC}}$ CCTAGACCATCGCGAGGACTACACGTCTTACGTGCGATGTCCTTTTGGGTAAGAAGAGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACGTACCCGACG GGTAGCGGATCTGGTAGCGCTCCTGATGTGCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTCCCAGCCGGGTGCCCCAATACTTCAGTGCATGGGCTGC ں G  $\mathbf{z}$ ပ Ŏ ы Д Ø G വ O ഗ ᇤ z ᇤ Ö 一 E ᇤ ص Õ agcgct(Eco47III) Д S ى G

TGCTTCTCTAGAGCATATCCCACTCCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAAGAACGTCACCTCAGAGTCCACTTGCTGTGTAGCAAAATCATAAACAGGGTC acgaagagatctcgtatagggtgaggtgattccaggttcttctgctacaaccaggttttcttgcagtggagtctcaggtgaacgacacatcgatttagtattgtcccag-~ z  $\succ$ ഗ × Ø > ပ ပ ₽ က ഥ ഗ ⊱ > z × ŏ > 宀  $\mathbf{z}$ × × တ 24 ப പ ₽ Д  $\succ$ Ø 24 လ

TGTCATTACCCCCCAAAGTTTCACCTCTTGGTGTGCCGCACGGTGACGTCATGAACAATAATAGTGTTTAGAATTCCATGG-51 ACAGTAATGGGGGGTTTCAAAGTGGAGAACCACGGCGTGCCACTGCAGTACTTGTTATTATCACAAATCTTAAGGTACC-3 ഗ × 二  $\succ$  $\succ$ ပ E--1 လ ပ н ပ Ø ⋿ 二 z ഥ  $\triangleright$ × ᄄ ග G Σ Δ

FIG. 11B

Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog #8 and Primers

s (underlined)

5' -<u>ATGAAAICGACGGAATCAGACTCGAGCCAAGGATGGAGATGTTCCAGGGGCTGCT</u>GCTGTTGCTGCTGAGCATGGGCGGGACATGGGCATCCAAGGAGCGCTT-3' -GCTTCCTACCTCTACAAGGTCCCCGACGACGACGACGACGACGACGTACCCGTCTTACCCGTAGGTTCCTCGGCGAA-ഥ Ø 3 ⊏ ტ G Σ ഗ ᆸ Ы 7 7 7 7 G ŏ  $\mathbf{z}$ ഥ  $\mathbf{z}$ ctcgag(XhoI)

CGGCCACGGTGCCGCCCCATCAATGCCACCCTGGGTGTGGAGAAGGAGGGCTGCCCCGTGTGCATCACCGTCAACACCACCATCTGTGCGGGGTACTGCCCCACCATGAC GCCGGTGCCACGGCGGGTAGTTACGGTGGGACCGACACCTCTTCCTCCGACGGGGCACACGTAGTGGCCAGTTGTGGTGGTAGACACGGCCGATGACGGGGTGGTTCTGG-Σ E-Д ပ **>** ഗ Ø ပ ⊢ ⊢ I V N C P V C ტ ᄄᆂᄀ × 드기 > Ø. П П Ø z Д α, Д

> Д N V G 4 പ ပ G Д IRL လ 드기 또 œ R D V N V гроуч cctnagg(MstII) K ~ ப > 5 Ŏ П R

CAGAGGATGCGGCACCGACAGTCGACAGTTACACGTGAG<u>A</u>CGGCGGCGTGGTGACTGACGGACGCTCCGGACCCCGGGTCGATGACGCTACTGGGCGCCCCTAGGœ പ ص د × ഗ ۵, ശ ᆸ ശ œ > ⊱⊣ ပ Ω ⊢ ⊏ ഗ 4 œ ပ A L ပ Ŏ ပ S ы Ø > Y

gggccc(ApaI) (SstII)ccgcggggatcc(BamHI)

FIG. 12A

 $\overline{\mathsf{CCAI}}$ CGCCTAGACCATCGCGAGGACTACACGTCCTAACGGGTCTTACGTGCGATGTCCTTTTGGGTAAGAAGAGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACGTACCCGACG GGTAGCGGATCTGGTAGCGCTCCTGATGTGCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCCGGGTGCCCCAATACTTCAGTGCATGGGCTGC G ∑ Ŏ ᆸ Д Ø G а Õ Д ഥ Ŏ E--덬 Ŏ agcgct(Eco47III)  $\Box$ Д ď S G Ġ ഗ

TGCTTCTCTAGAGCATATCCCACTCCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAGAACGTCACCTCAGAGTCCACTTGCTGTGTAGCTAAATCATAAAAGGGGTC ACGAAGAGATCTCGTATAGGGTGAGGTGATTCCAGGTTCTTCTGCTACAACCAGGTTTTCTTGCAGTGGAGTCTCAGGTGAACGACACATCGATTTAGTATATTGTCCCAG ∝ Z  $\succ$ လ × V Ν ی ⊱ တ ഥ လ ⊨  $\triangleright$ Z **×** Ø > ᅠᄀ ≥ × × ഗ ĸ ᆸ പ <del>---</del>- $\succ$ A œ ഗ

TGTCATTACCCCCCAAAGTTTCACCTCTTGGTGTGCCGCACGGTGACGTCATGAACAATAATAGTGTTTAGAATTCCATGG-5' aCagtaatggggggtttcaaagtggagaaccacacggggtgccactgcagtacttgttattatcacaaatcttaaggtacc-3' ഗ × 二  $\succ$  $\succ$ ပ ⊱ တ ပ ш ပ Ø Ę == z ᇤ > × [±., G G  $\mathbf{z}$ ΙΛ

ggtacc(KpnI)

FIG. 12B

Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog 9 and Cassette

(underlined)

M K T L Q F F F L F C C W K A I C C N

ഥ

3' -GGTTCCTACTICTGIGAGGTCAAAAAGAAGGAAAAGACAACGACCTTTCGTTAGACGACGTTATCGACACTCGACTGGTTG-

ctcgag (XhoI)

V പ  $\Box$ × Ω ∝ G Y C CA 3 ⊱⊣ Z က ᄄ ~ ပ ഥ ĹΞ ഥ

20/28 ⊢ V A <sub>ال</sub>م I. Ι ഗ Ω ď H 二 ď ပ G Д > × > E-1 ഥ ≻⊣ > 一 ᇤ **×** ₽ ပ ₽ × O щ × Д

TGTCACTGTGGCAAGTGTGACAGCGACAGCACTGGTTGTACTGTGCGAGGCCTGGGGCCCAGCTACTGCTCCTTTGGTGAAGGATCCGGTAGCGATCTGGTAGCGCTCCT ഗ G က G ഗ ധ လ Ġ 드기 ۍ ᄄ ഗ ပ >-လ വ ഗ ы ഗ 24  $\triangleright$ ₽ ပ ⊣ ഗ လ ပ × ტ ပ П

ACAGTGACACCGTTCACACTGTCGTGTCGTGACTAACATGACACGCTCCGGACC<u>CCGGGTCGATGACGAAAACCACTTCCTAG</u>GCCATCGCCTAGACCATCGCGAGGA-

gggccc(ApaI) (BamHI)ggatcc

agcgct (Eco47III)

tggcca(Ball)

FIG. 13A

GATGTGCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCGGGGTGCCCCAATACTTCAGTGCATGGGGCTGCTGCTTCTCTAGAGCATATCCCACT CTACACGTCCTAACGGGTCTTACGTGCGATGTCCTTTTGGGTAAGAGGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACGTACCCGACGACGAAGAGATCTCGTATAGGGTGA-Ø α, ഗ [z., ں ပ  $\mathbf{\Sigma}$ ں ŏ പ Ø G പ Ö Д 屲 O E--Д

GGTGATTCCAGGTTCTTCTGCTACAACCAGGTTTTCTTGCAGTGGAGTCTCAGGTGAACGACAACTACGATTTAGTATATTGTCCCAGTGTCATTACCCCCCAAAGTTTCAC CCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAGAACGTCACTCAGAGTCCACTTGCTGTGTAGCTAAATCATATAACAGGGTCACAGTAAATGGGGGGTTTCAAAGTG >  $\simeq$ ᄄ G 5 M V > 24 z  $\succ$ Ş × V > ပ ပ ₽ ഗ ഥ က ⊢ > z  $\simeq$ Ŏ Λ Σ ⊱ × × ഗ **~** T d

E N H T A C H C S T C Y Y H K S \*
GAGAACCACACGGCGTGCCACTGCTATTATCACAAATCTTAAGGTACC-3'
CTCTTGGTGTGCCGCACGGTGACGTCATGAACAATAATAGTGTTTAGAATTCCATGG-5'

ggtacc(KpnI)

FIG. 13B

Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog 10 and Cassette

(underlined)

3' -GGTTCCTACTTCTGTGAGGTCAAAAGAAGGAAAAGACAACGACCTTTCGTTAGACGACGTTATCGACACTCGACTGGTTG-5' -ATGAAATCGACGGAATCAGACTCGAGCCAAGGATGAAGACACTCCCAGTTTTTCTTCCTTTTCTGTTGCTGGAAAGCAATCTGCTGCAATAGCTGTGAGCTGACCAAC ဌ Ø × 3 ڻ ں بعتا ᆸ ᄄ 뚀 لتما Ŏ ᆸ E-4 × Σ ctcgag (XhoI)

ď Д  $\Box$ V Y K ⊬⊣ R O WCAGYCY ⊢ Z S L 뚀 **~** ы Ш ഥ 凶 띠

⊢ V A SIYTYP A D н == Ø ပ ပ മം V R V ⊢ ᅜ Λ [±] X ᄄ ⊣ ပ ₽ × Ø Н **×** പ

22/28

tggcca (Ball)

ACAGTGACACCGTTCACACTGTCGTGTCGTGACTAACATGACACGCTCCGGACCCCGGGTCGATGACGCCTAGGCCATCGCCTAGACCATCGCGAGGACTACACGTCCTA TGTCACTGTGGCAAGTGTGACAGCGACAGCACTGATTGTACTGTGCGAGGCCTGGGGCCCA<u>GCTACTGCG</u>GATCCGGTAGCGGATCTGGTAGCGCTCCTGATGTGCAAGT Ŏ D V agcgct(Eco47III) വ Ø လ G (BamHI)ggatcc လ 9 ഗ 9 S G ပ S Y م G Н G œ Δ ပ Ω E--ഗ လ Ω ပ **×** G ں

gggccc (ApaI)

FIG. 14A

TGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCCGGGTGCCCCAATACTTCAGTGCATGGGCTGCTTCTTCTTAGAGCATATCCCACTCCACTAAGGTCC-ACGGGTCTTACGTGCGATGTCCTTTTGGGTAAGAAGAGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACGTACCCGACGAGGAGAGATCTCGTATAGGGTGAGGTGATTCCAGG ഷ Д H Д >ď ∝ ഗ ں ပ G  $\mathbf{z}$ ی Ŏ ы Д ø G م Ø S ഥ z ഥ Õ ഥ

TTCTTCTGCTACAACCAGGTTTTCTTGCAGTGGAGTCTCAGGTGAACGACACATGCATTTAGTATTGTCCCAGTGTCATTACCCCCCAAAGTTTCACCTCTTGGTGTGT aagaagacgatgttggtccaaaagaacgtcacctcagagtccacttgctgtaggtaaatcatataacagggtcacagtaatgggggggtttcaaagtggagaaccacacg 二 z ᇤ > × ᄄ G ტ  $\mathbf{\Sigma}$ ΙΛ > **~** z ∀ လ **×** Ø > ပ ပ E---1 ഗ ഥ လ Ę-4  $\triangleright$ z **×** Ŏ > П Σ ₽

A C H C S T C Y Y H K S \* GCGIGCCACIGCAGTACTTATCACAAAICITAAGGTACC-3' CGCACGGTGACGTCATGAACAATAGTGTTTTAGAATTCCATGG-5'

ggtacc(KpnI)

FIG. 14B

Preparation of an alpha-subunit coding region lacking oligosaccaride

signal sequences

TGCGGATCCGGTAGCGGATCTGGTAGCGCTCCTGATGTGCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCCGGGTGCCCAATACTTCAGTGC ACGCCTAGGCCATCGCCTAGACCATCGCGAGGACTACACGTCCTAACGGGTCTTACGTGCGATGTCCTTTTGGGTAAGAAGAGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACG Ø ഗ Δ Ŏ ഗ 또 ᄄ പ z 드 Ŏ l H ပ Œ പ ပ Ω Ŏ agcgct (Eco47III)  $\triangleright$  $\Box$ വ Ø ഗ G BamHI)ggatcc လ Ç လ G တ <u>ဂ</u>

ATGGGCTGCTGCTTCTCTAGAGCATATCCCACTCCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAGCAAGTCACCTCAGAGTCCACTTGCTGTGTAGCTAAATCATAT TACCCGACGACGAAGAGATCTCGTATAGGGTGAGGTGATTCCAGGTTCTTCTGCTACAACCAGGTTTTCGTGCAGTGGAGTCTCAGGTGAACGACACATCGATTTAGTATA ഗ × V A ပ ပ ₽ ഗ 더리 က ⋿⊣ Ν ŏ × ŏ > Ы ∑ × **×** ഗ œ Ы പ ₽ Д  $\succ$ tctaga (XbaI) Ø ~ മ ᄄ ပ

TTGTCCCAGTGTCATTACCCCCCAAAGTTTCACCTCGTTGTGTGCCGCACGGTGACGTGAACAATAATAGTGTTTAGAATTCCATGGCCATG-5' AACAGGGTCACAGTAATGGGGGGTTTCAAAGTGGAGCAACACACGGCGTGCCACTGCAGTACTTGTTATTATCACAAATCTTAAGGTACC-3' လ **\** == >- $\succ$ ပ ⊢ လ ပ == ی T T н Ø ഥ > × ᄄ G G Σ > ⊱⊣ > 24

ggtacc(KpnI)

FIG. 15

# Preparation of a beta-subunit coding region lacking asn-linked

oligosaccaride signal sequences

5' - <u>ATGAAATCGACGGAATCAGACTCGAGCCAAGGATGGATGTT</u>CCAGGGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAGCATGGGGCGGACATGGGCATCCAAGGAGCCTT-3' -GGTTCCTACCTCTACAAGGTCCCCGACGACGACGACGACGACGACGACGTACCCGCCCTGTACCCGTAGGTTCCTCGGCGAA-**×** ഗ W A Ę 5 5 I S M 口 П П ᆸ 口 G Ŏ Ľщ  $\mathbf{\Sigma}$ ഥ  $\mathbf{z}$ ctcgag(XhoI)

GCCGGTGCCACGC<u>CGGGGTAGGI</u>TCGGTGGGACCGACACCTCTTCCTCCCGACGGGCACACGTAGTGGCAGTTGTGGTGGTAGACACGGCCGATGACGGGGTGGATCTGG-Z C A G Y C P T V N T ⊢ > ద ں G 드 **\** ഥ QATLAV Д œ

പ z G V 24 പ ပ R L P G S 떠 V L R A L P Q V V C N Y R D V R cctnagg(MstII) G R V L Q

**25/28** 

agc

ഷ പ ပ ₽ 山 Д == × p., G G Ω ⊱⊣ E--ഗ ഷ ∝ ပ ⊣ Ø ی Ŏ ပ ഗ Ø >

CTGAGGAGAAGGAGTTTCCGGGGGGGGGGGTCGGAAGGTTCGGGTAGGGCTTGAGGGCCCCCGGGAGCCTGTGGGGGGCTAGGAGGGGGTTCCTAGGCCATCGCTAGACCATCG GACTCCTCCTCCTCCAAAGGCCCCCCCCCCCAGCCTTCCAAGCCCATCCCGACTCCCGGGGCCCTCGGACACCCCGGATCCTCCCCCAA<u>GGATCCGGTAGCGGATCTGGTAGC</u> လ G လ G ggatcc(BamHI) လ G လ G Ø Д ᆸ Д ₽ Ω gggccc (ApaI) ഗ പ ტ Д Ы ≃ တ Д ഗ م ᆸ လ Д Д а Ø × လ ഗ S က 

Ω Ŏ Δ Ω

Д

V

CGAGGACTACACGTCCTAACGGGT GCTCCTGATGTGCAGGATTGCCCA

gct(Eco47III)

## Coding Sequence for Single Chain Gonadotropin Analog #la

### 5' - ATGAAATCGACGGAATCAGACTCGAGCCAAGGATGGAGGATGTTCCAGGGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGAGCATGGGGCGGACATGGGCATCCAAGGAGCCTT-3' -GGTTCCTACCTCTACAAGGTCCCCGACGACGACGACGACGACGACGTCGTACCCGCCCTGTACCCGTAGGTTCCTCGGCGAA 드기 S Ø 3 G G $\mathbf{z}$ လ ᆸ G Ŏ [<del>\_</del> $\mathbf{\Sigma}$ Œ $\geq$ ctcgag (XhoI)

CGGCCACGGTGCCGCCCCATCAATGCCACCCTGGCTGTGGAGAAGGAGGGCTGCCCCGTGTGCATCACCGTCAACACACCATCTGTGCCGGCTACTGCCCATGACCA GCCGGTGCCACGGCGGGTAGTTACGGTGGGACCCGACACCTCTTCCTCCCGACGGGCCACACGTAGTGGCCAGTTGTGGTGGTAGACACGGCCGATGACGGGGGTGGATCTGG Σ ₽ പ ပ  $\succ$ ල Ø ی I Ę→ı N N E--1 P V C ပ G ഥ × ഥ > Ø ᆸ ₽ V z ہم

27/28 Д 2 > ტ ~ Д ပ ഗ R L P S ᇤ ᄄ V R R D >-1 z ALPQVVC cctnagg (MstII) œ ΙΛ G Ŏ ᆸ R

α, ပ ⋿ **-**--1 വ 二 Δ × Д G ഗ ပ  $\Box$ ⊟ ⊨ လ œ α ပ A L ပ Ŏ ပ လ Н Ø > Ø >-1 ഗ >

FIG. 17A

CTGAGGAGAAGGAGTTTCCGGGGAGGGGCTCGGAAGGTTCGGGTAGGGCTTGAGGGCCCCGGGAGCCTGTGGGGGCTAGGGGGGGTTCCTAGGCCATCGCTTAGACCATCGagc Ç r ggatcc(BamHI) တ G gggccc (ApaI)  $\Box$ G 山 α, ഗ GACTCCTCTTCCTCAAAGGCCC ×

GCTCCTGATGTGCAGGATTGCCCAGAATGCACGCTACAGGAAAACCCATTCTTCTCCCAGCCGGGTGCCCCAATACTTCAGTGCCATGGGCTGCTTCTCTAGAGCATAT-CGAGGACTACACGTCCTAACGGGTCTTACGTGCGATGTCCTTTTGGGTAAGAAGAGGGTCGGCCCACGGGGTTATGAAGTCACGTACCCGACGACGAAGAGATCTCGTATA ¥ α; ഗ ഥ ပ ပ G  $\mathbf{z}$ ပ Ŏ ᆸ ച Ø G Д. Ŏ S [±., ط z ഥ Õ Ы H ഥ പ  $\Box$ Õ gct(Eco47III) Ø

CCCACTCCACTAAGGTCCAAGAAGACGATGTTGGTCCAAAAGCAAGTCACCTCAGAGTCCACTTGCTGTGTAGCTAAATCATAAAAGGGGTCACAGTAATGGGGGGTTTC-GGGTGAGGTGATTCCAGGTTCTTCTGCTACAACCAGGTTTTCGTTCAGTGGAGTCTCAGGTGAACGACACATTCGTTTAGTATTGTCCCAGTGTCATTACCCCCCAAAG-ڻ G Z > ₽ > ~ Z  $\succ$ ഗ  $\bowtie$ ¥ > ی ပ ⊢ တ Ľ±٦ လ E---1 > Ø × Ŏ > ⊣  $\mathbf{\Sigma}$ ⊢ × × ഗ **~** ы Д ⊢ പ

TTTCACCTCGTTGTGTGCCGCACGGTGACGTCATGAACAATAATAGTGTTTAGAATTCCATGGCCTAGGTAGAGTTCGATTAGGCCT-5 ' (KpnI)ggtaccggatcc(BglII) AAAGTGGAGCAACACGCGGGGTGCCACTGCAGTACTTGTTATTATCACAAATCTTAAGGTACC-3' ഗ × I  $\rightarrow$  $\succ$ ပ ⊨ ഗ ပ 二 ပ Ø ₽ 二 ŏ ᇤ **×** 

FIG. 17B